Revue suisse Zool.	Tome 91	Fasc. 4	p. 867-877	Genève, décembre 1984

Un Turbellarié Rhabdocoele du genre *Macrostomum* O. Schmidt, 1848, prédateur dans les élevages d'escargots aquatiques [1]

par

D. T. EKLU-NATEY *, J. WÜEST *, C. SALAMIDA * et H. HUGGEL *

Avec 19 figures

Abstract

Predatory activity of a Rhabdocoelid Turbellarian of the genus *Macrostomum* O. Schmidt, 1848, inside breedings of aquatic snails. — Inside a breeding of *Bulinus obtusispira* and *B. globosus* (Gasteropoda) performed for maintaining the life cycle of *Schistosoma haematobium* in laboratory, a Rhabdocoelid Turbellarian of the genus *Macrostomum* O. Schmidt, 1848, developed in an explosive way and disturbed strongly the reproduction of the snails. These very voracious *Macrostomum* can swallow the young, newly hatched snails, attack directly the adults, disturb the egg laying and destroy the dead individuals. On the other hand, the *Macrostomum* secrete mucoid nets which lime the miracidia and cercariae, thus disturbing considerably the life cycle of the Schistosomes in laboratory. Methods for elimination of the Turbellarians are indicated. The general morphology and the ultrastructure of the digestive tract of this *Macrostomum* were also studied in light, transmission and scanning electron micoscopy.

INTRODUCTION

Dans nos élevages de *Bulinus obtusispira* et *B. globosus* (Gastéropodes aquatiques), destinés au maintien du cycle biologique de *Schistosoma haematobium*, sont apparus des Turbellariés Rhabdocoeles du genre *Macrostomum*, dont la prolifération a provoqué une nette diminution de la reproduction de ces mollusques et a influencé négativement le

* Laboratoire d'Anatomie et Physiologie comparées, Faculté des Sciences, Université de Genève, 3, place de l'Université, CH-1211 Genève 4, Suisse.

[1] Poster présenté à l'assemblée annuelle de la SSZ à Fribourg, les 3 et 4 mars 1984.

maintien du cycle du Trématode. Il nous a paru utile de tirer au clair l'effet néfaste de ce Turbellarié sur nos élevages et de donner des indications permettant à d'autres laboratoires de vérifier leur présence et de se débarrasser de tels hôtes indésirables.

Le genre *Macrostomum*, cosmopolite, a fait l'objet de plusieurs travaux systématiques, dont les études de von Graff (1882, 1913), Okugawa (1930), Hyman (1936, 1943), la monographie de Ferguson (1940) et plus récemment Young (1976) sur des espèces africaines. De nombreuses espèces ont été décrites, dont quelques-unes ont été signalées dans des aquariums à eau chaude (Young & Young 1967). Holliman & Mecham (1971) ont observé que *M. gigas* pouvait se nourrir de cercaires de *Schistosoma mansoni*, ainsi que de nombreux autres micro-invertébrés.

Cependant, à notre connaissance, aucune étude comparative utilisant la microscopie électronique à balayage n'a été faite. Cela nous a incités à compléter la présente note par une étude générale préliminaire de l'ultrastructure de l'intestin de ce Turbellarié en microscopie électronique à transmission et à balayage. Une autre publication (Eklu-Natey *et al.*, en préparation) portera sur l'ultrastructure du tégument et des glandes annexes.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les Gastéropodes pulmonés *Bulinus obtusispira* (souche de Madagascar) et *B. globosus* (souche du Togo), hôtes intermédiaires naturels de *Schistosoma haematobium* sont élevés dans des aquariums d'eau douce, à une température de 24 à 28°C. Le fond des aquariums est tapissé d'une couche d'argile fraîche obtenue des carrières de tuilerie de Oberwil (Bâle, Suisse) et de Bardonnex (Genève, Suisse). Les escargots pondent des œufs agglutinés en masses de 10 à 30 œufs par une substance gélatineuse, d'où éclosent des jeunes après 7 à 10 jours d'incubation.

Mis à part le Crustacé *Daphnia pulex*, introduit volontairement pour réduire la prolifération des algues, il se développe dans l'eau des aquariums une importante microfaune: des Protozoaires, des Rotifères, des Annélides tubificidés et surtout des microturbellariés du genre *Macrostomum*, qui font l'objet de la présente note.

Pour notre étude, les Turbellariés vivants sont très lentement anesthésiés et relaxés au menthol, puis fixés dans différents milieux. Certains sont fixés au formol neutre à 10% puis, soit coloré in toto au carmin boracique et montés à l'Eukitt, soit enrobés à la paraffine, coupés et colorés à l'hémalun-éosine ou au PAS. D'autres sont fixés à la glutaraldéhyde à 4% tamponnée au cacodylate à pH 7,4, deshydratés puis soit enrobés au Spurr, coupés et colorés pour la microscopie électronique à transmission, soit passés au point critique et observés après métallisation au microscope électronique à balayage. Dans ce dernier cas, quelques animaux ont été traités aux ultrasons pendant 20 à 30 secondes à 50 kHz après la fixation, en vue de casser les cils. Les observations ont été réalisées sur le microscope électronique à balayage Super-Mini SEM ISI du Muséum d'histoire naturelle de Genève et sur le microscope électronique à transmission Zeiss 10 du Département de Biologie animale de l'Université de Genève.

RÉSULTATS

1. Description générale

Le *Macrostomum* observé dans nos élevages est un micro-turbellarié hermaphrodite, au corps allongé, transparent, mesurant entre 0,5 et 3 mm de longueur avec une largeur maximale de 1,2 mm au tiers antérieur de l'animal (fig. 1); ces mesures ne représentent

qu'une approximation, car le corps des turbellariés est très extensible. La surface du corps est recouverte de cils, y compris l'apex antérieur et l'extrémité postérieure élargie en une palette ou spatule rectangulaire (figs. 2 et 3). Cependant, juste à l'avant de l'ouverture buccale, il a été observé une zone en « V », dépourvue de cils (fig. 7). Sur les bords

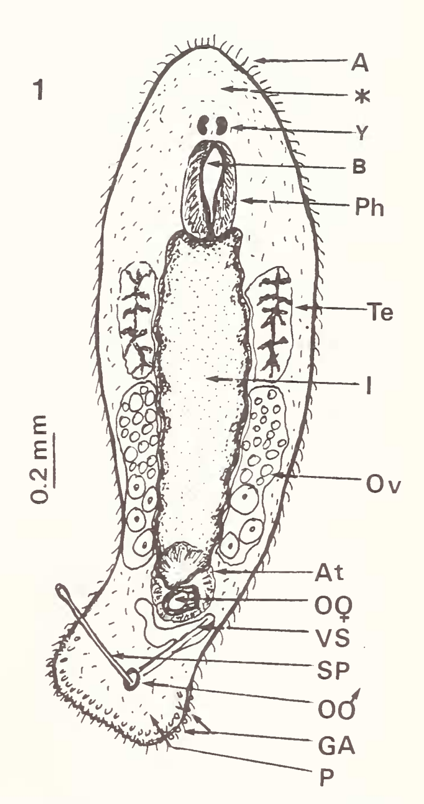


Fig. 1.

Représentation schématique de l'anatomie de *Macrostomum gigas*, montrant les principaux organes.

*: zone aciliée en « V » — A: apex antérieur — At: atrium ou antrum — B: bouche — Cl: cellules columnaires — C2: cellules glandulaires — E: escargot (coquille) — GA: glandes adhésives — I: intestin — L: lumière — Ov: ovaire — O♀: orifice femelle — O♂: orifice mâle — P: palette caudale — Ph: pharynx — Rh: rhabdites — SP: stylet du pénis — T: tégument — Te: testicule — VS: vésicule séminale — Y: yeux.

de la palette caudale s'observent les papilles des glandes adhésives (fig. 11). L'ensemble du corps est parsemé de rhabdites réunis en groupes de 5 à 10 (fig. 10).

La bouche, ventrale, est une fente longitudinale (figs 3 et 4) située vers l'avant du corps; elle donne accès à un pharynx épais et cilié, suivi d'un intestin, également cilié, en forme de sac non ramifié. En coupe transversale, l'intestin présente de profonds replis, ce qui le rend extensible et permet de contenir des proies volumineuses. Juste à l'avant du pharynx, s'observe le cerveau au-dessus duquel se trouvent deux yeux, fortement pigmentés et légèrement réniformes.

L'appareil génital femelle se compose de deux ovaires allongés, situés latéralement au tiers central de l'intestin et contenant de nombreux lobules (ovocytes). Ils sont suivis chacun d'un oviducte large où l'on distingue souvent de gros ovocytes mûrs. Au niveau du cul-de-sac postérieur du tube digestif, les oviductes débouchent dans un atrium ou antrum unique, qui s'ouvre ventralement à l'extérieur par l'orifice femelle (figs. 1 et 8) situé au centre d'une zone circulaire plus ou moins turgescente.

L'appareil génital mâle est formé de deux testicules situés au tiers antérieur de l'intestin, à l'avant des ovaires. Ils se prolongent par deux canaux déférents qui débouchent dans une vésicule séminale subdivisée en trois lobes, à l'arrière du niveau de l'orifice

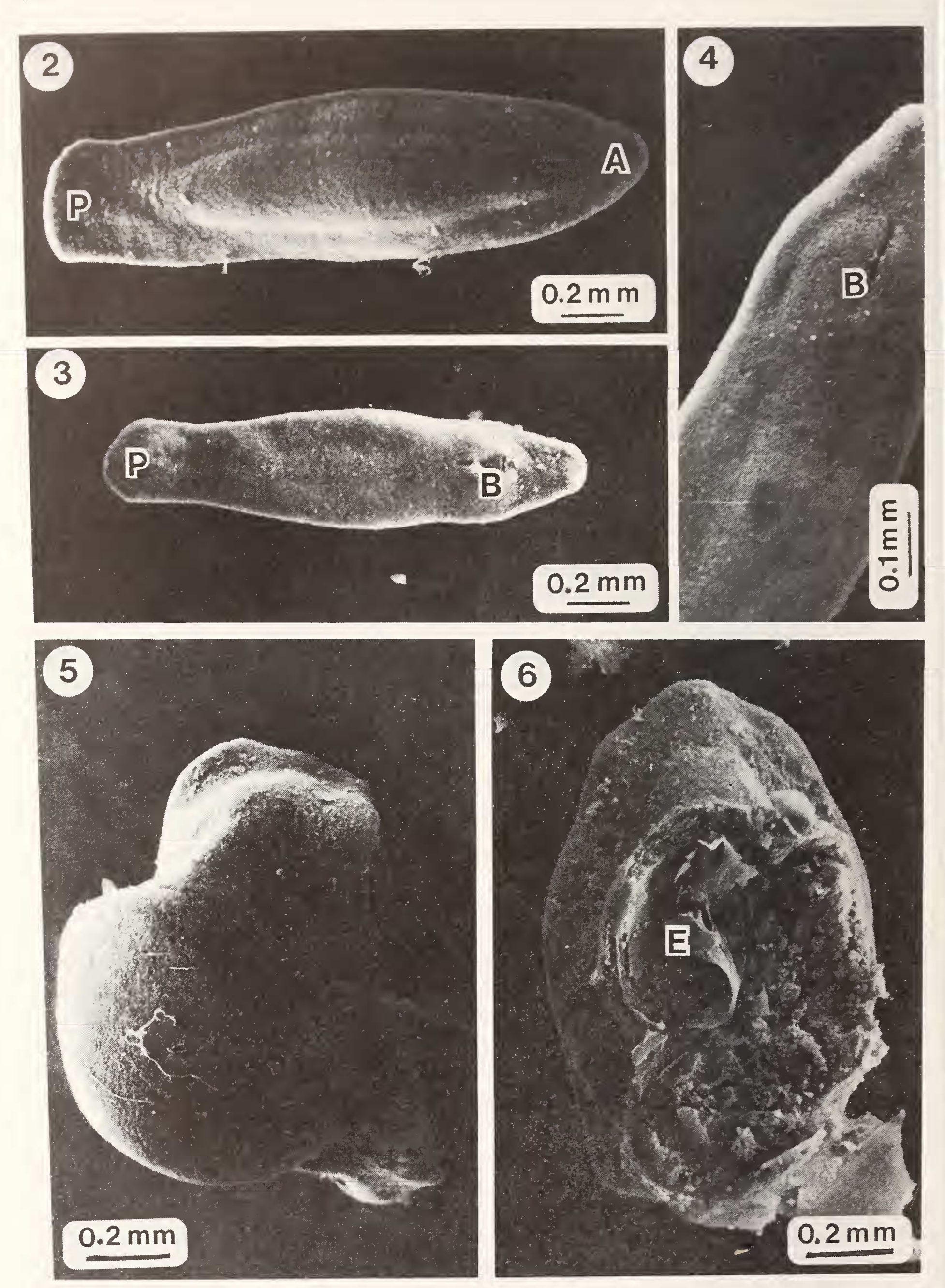


PLANCHE I.

FIG. 2: Vue dorsale au microscope électronique à balayage: noter l'apex antérieur arrondi et la palette postérieure; FIG. 3: Vue ventrale au M.E.B.; FIG. 4: Détail de la fente buccale; FIG. 5: *Macrostomum gigas* ayant avalé un jeune escargot, *Bulinus obtusispira*; FIG. 6: *M. gigas* « ouvert » après repas: on y distingue la coquille d'un escargot.

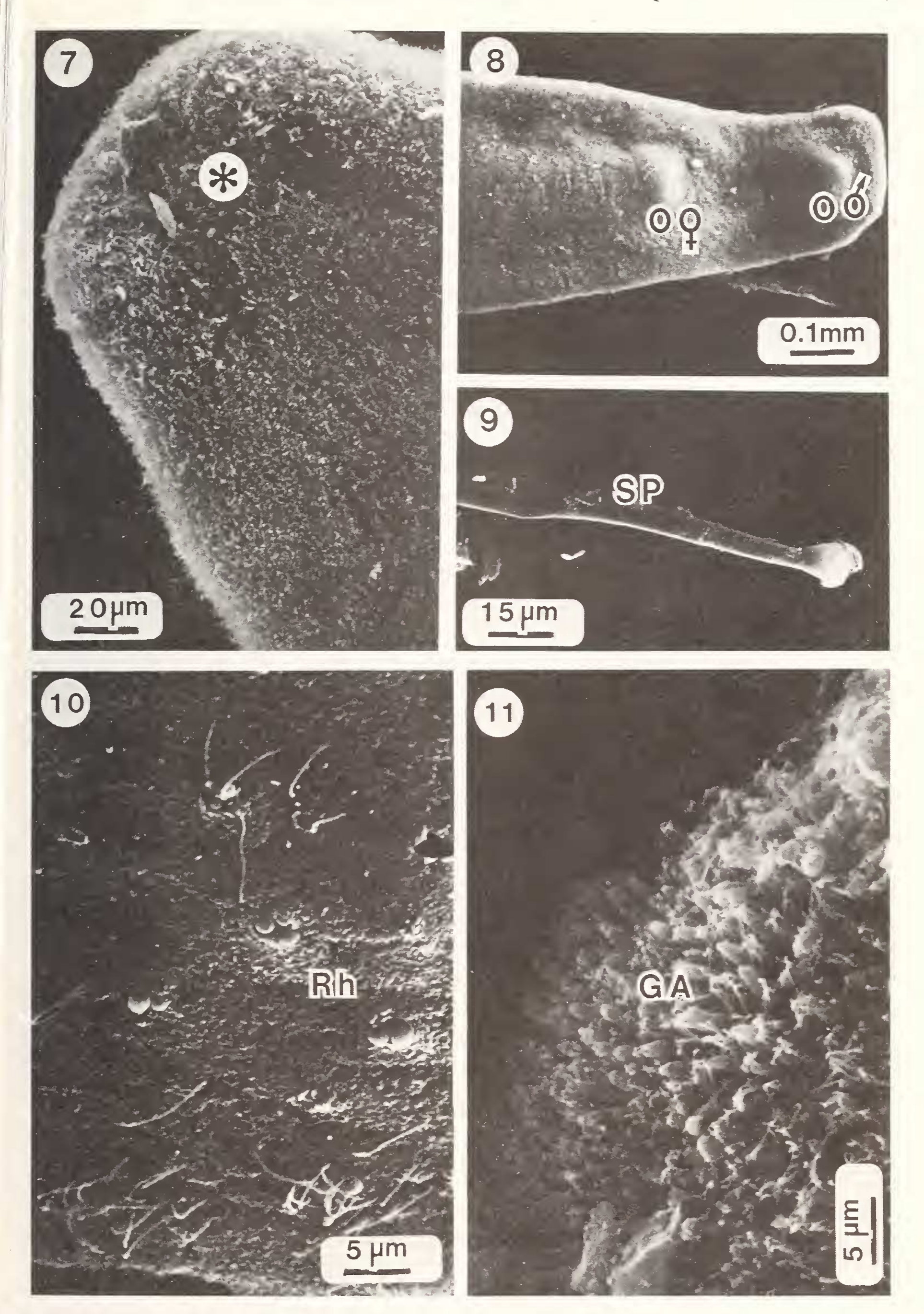


PLANCHE II.

Fig. 7: Détail de la face ventrale de l'apex, où l'on observe une zone non ciliée en « V », à l'avant de la fente buccale; Fig. 8: Orifices génitaux; Fig. 9: Partie distale du stylet du pénis; Fig. 10: Surface du corps d'un animal traité aux ultra-sons: on observe mieux les rhabdites en train d'être sécrétés; Fig. 11: Papilles des glandes adhésives sur la palette caudale.

femelle. De la vésicule séminale part le stylet du pénis, dévaginable. L'orifice génital mâle est situé dans la zone subterminale de la palette caudale (figs. 1 et 8). Le stylet du pénis, de forme tubulaire, mesure 300 à 450 µm de long (figs. 1 et 9). Il présente une ouverture terminale et son extrémité est légèrement renflée en raison d'un épaississement de la paroi à cet endroit. Ces caractères nous incitent à penser qu'il s'agit ici de l'espèce *Macrostomum gigas* Okugawa, 1930.

2. Biologie

Les micro-turbellariés de nos aquariums proviennent sans doute de l'argile utilisée comme substrat au fond des bacs d'élevage, et prélevée dans des carrières situées près d'étangs ou de cours d'eau.

Alors que les autres micro-invertébrés observés dans les aquariums ne semblent pas avoir d'effet négatif apparent sur les escargots, les *Macrostomum* s'attaquent autant aux jeunes qu'aux adultes. Carnassiers voraces, ils poursuivent activement tout ce qui bouge dans l'aquarium, sauf leurs propres congénères. Les jeunes se nourrissent de protozoaires, de miracidiums et de cercaires entre autres, tandis que les adultes parviennent à avaler des proies vivantes presque aussi grosses qu'eux.

Nous pouvons résumer ainsi l'influence de la présence de ces micro-turbellariés sur nos élevages:

— les *Macrostomum* avalent entièrement les jeunes escargots nouvellement éclos, coquille comprise (figs 5 et 6). Après quelques heures, les coquilles vides sont régurgitées presque dépourvues de toute trace organique;

— ils s'attaquent aussi aux escargots adultes en pénétrant dans la coquille par le péristome, causant ainsi des dégâts au corps du mollusque. Cependant, nous n'avons pas pu prouver si ces lésions mènent à la mort du mollusque adulte. Les *Macrostomum* contribuent par contre à la digestion des cadavres et au nettoyage des coquilles. En outre, les attaques continuelles plusieurs fois observées contre les adultes vivants empêchent ceux-ci de pondre, ce qui a pour effet une absence quasi totale de pontes dans les aquariums fortement infestés;

— les *Macrostomum* sécrètent une substance muqueuse qui, au contact de l'eau, forme des filets blanchâtres longs et enchevêtrés où peuvent se prendre de nombreuses proies, spécialement les miracidiums, ce qui réduit considérablement les chances d'infection des mollusques par les schistosomes;

— enfin, les éventuelles cercaires émises par les mollusques infestés peuvent aussi être prises dans ces filets et mangées par les *Macrostomum*, ce qui diminue le nombre de cercaires libres à disposition pour infester les rongeurs, hôtes définitifs des schistosomes en laboratoire.

En résumé, ces micro-turbellariés doivent être considérés comme néfastes et dangereux à partir du moment où ils apparaissent dans un élevage de mollusques aquatiques.

3. Ultrastructure du tube digestif: pharynx et intestin

Le tube digestif se compose d'un pharynx glandulaire et d'un intestin en cul-de-sac.

Le pharynx se présente comme une ouverture allongée, profonde et ciliée (figs. 1, 12 et 13). Au microscope électronique à balayage, sa paroi se montre formée de replis allongés en sillons, où s'observent des rhabdites et de nombreuses ouvertures de glandes

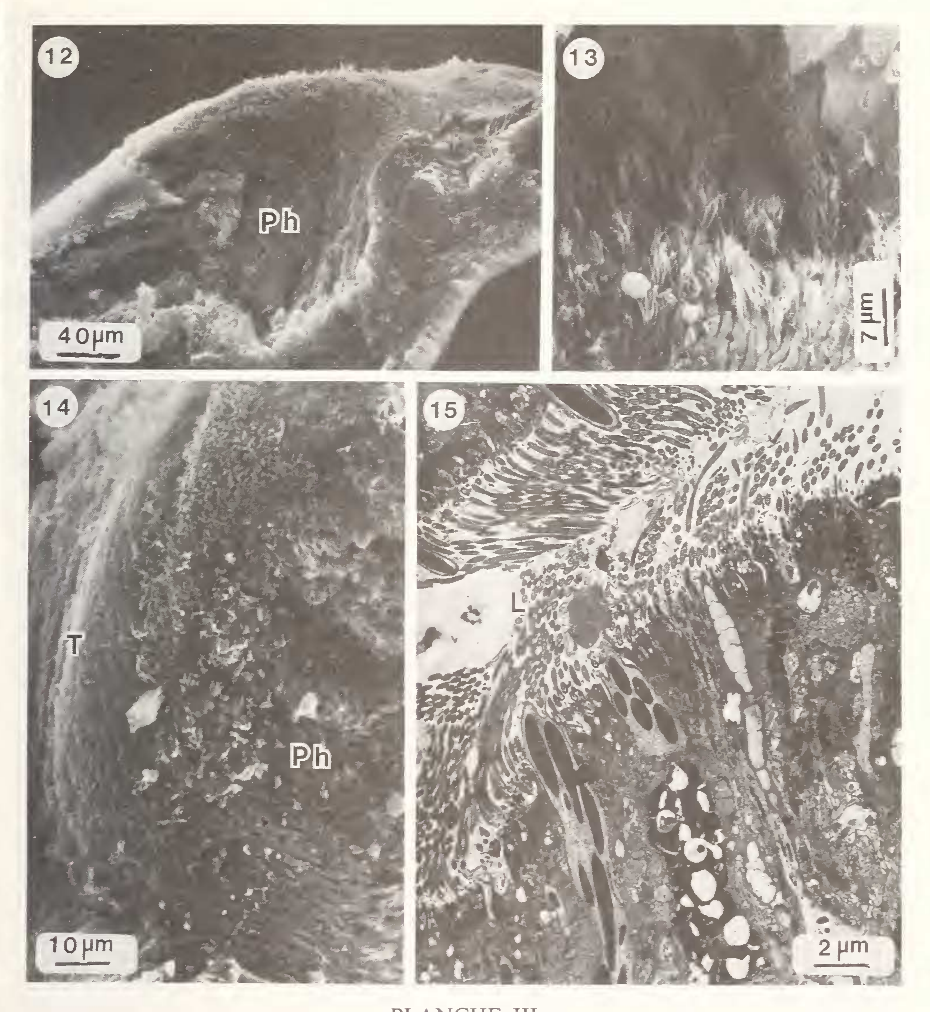


PLANCHE III.

Fig. 12: Vue générale du pharynx; Fig. 13: Détail du pharynx montrant la ciliature et les replis de la paroi; Fig. 14: Détail de la transition entre le tégument et le pharynx; Fig. 15: Vue du pharynx au microscope électronique à transmission, montrant différents types glandulaires se déversant dans la lumière.

(figs 13 et 14). Au microscope électronique à transmission, la structure de la paroi présente de nombreux éléments communs avec celle du tégument: ciliature, rhabdites, glandes tégumentaires, glandes adhésives (fig. 15). Le détail de ces glandes sera décrit dans une prochaine publication (Eklu-Natey *et al.*, en préparation). L'observation du pharynx suggère qu'il constitue un point de déversement de nombreux types de sécrétions, jouant un rôle dans la rétention et peut-être la prédigestion des proies vivantes.

L'intestin est un sac allongé antéro-postérieurement dont les cellules de la paroi apparaissent au microscope à balayage comme de grosses protubérances ciliées (fig. 17).

Au microscope à transmission, on y distingue deux types cellulaires: (1) des cellules columnaires, phagocytaires et ciliées dont l'apex fait saillie dans la lumière intestinale; et (2) des cellules glandulaires pyriformes à sphériques, situées plus en profondeur (figs. 18 et 19).

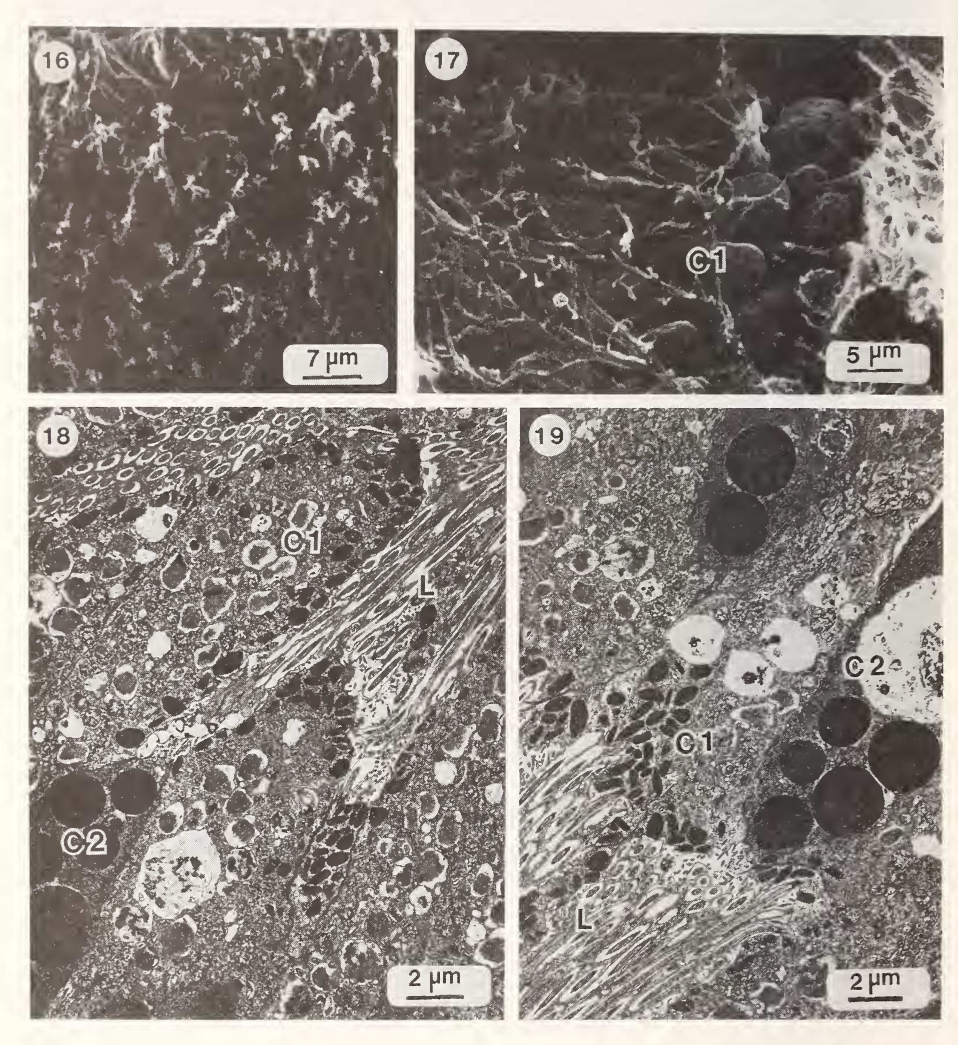


PLANCHE IV.

Fig. 16: Vue au M.E.B. de l'intestin non traité aux ultra-sons, montrant la ciliature; Fig. 17: Intestin après traitement aux ultra-sons, permettant de mieux distinguer les protubérances des cellules columnaires; Fig. 18 et 19: Vue au M.E.T. de la paroi de l'intestin. Noter les tailles respectives des sécrétions des deux types cellulaires.

Les cellules columnaires sont pourvues de cils (figs. 16 et 18). Tout le long de la membrane plasmique, on observe de nombreux granules ovoïdes relativement petits, très denses aux électrons. Le cytoplasme est rempli de vacuoles digestives au contenu

clair ou légèrement dense. Les granules ovoïdes sont parfois associés aux vacuoles, ce qui indique la fonction de digestion intracellulaire de ces cellules phagocytaires.

Les cellules glandulaires sont non ciliées et débouchent entre les cellules columnaires. Leur apex en contact avec la lumière intestinale est très restreint (figs. 18 et 19). Leur cytoplasme contient de très gros granules sphériques opaques aux électrons et est très riche en réticulum endoplasmique granulaire. Ces cellules, qui doivent déverser leur sécrétion dans la lumière intestinale, participent très certainement à la digestion extracellulaire (ou intraluminaire). On observe cependant aussi quelques larges vacuoles dans ces cellules glandulaires.

DISCUSSION

Comme déjà indiqué plus haut, les caractéristiques du stylet pénien du micro-turbellarié décrit dans ce travail correspondent à celles de *Macrostomum gigas* Okugawa, 1930. Ces mêmes caractéristiques éliminent *M. appendiculatum* (O. Fabr.), souvent cité en Suisse et dans les régions voisines (Hofsten 1912), ainsi que *M. tuba* (Graff), 1882 et *M. bulbostylum* Ferguson, 1939. *M. gigas*, décrit au Japon, a aussi été observé en Amérique et en Europe (Hyman 1943) dans des aquariums à eau chauffée, ainsi que dans des milieux naturels (Papi 1952).

Les travaux de Jennings (1957, 1974) ont permis de mieux connaître la structure et la physiologie du système digestif des turbellariés, selon leur position taxonomique. Il a pu ainsi être démontré que dans certains groupes, la digestion serait uniquement intracellulaire, la lumière intestinale lorsqu'elle existe, ne jouant qu'un rôle de broyage mécanique avant que les petites particules ne soient absorbées et digérées par les cellules phagocytaires. Chez les *Macrostomum* en général, comme chez la grande majorité des turbellariés, la digestion est double (extracellulaire et intracellulaire), faisant intervenir un grand nombre d'enzymes qui ont été mises en évidence par Rosenbaum & Rolon (1960), Osborne & Miller (1963) et par Jennings (1957, 1974).

L'activité cercariophagique de *M. gigas* a déjà été signalée par Holliman & Mecham (1971) et la prédation de mollusques par des macro-turbellariés était connue (Crozet 1982). De plus, les travaux de Chernin & Perlstein (1971) et de Glaudel & Etges (1973) ont montré que certains turbellariés sécrètent une substance toxique pour les miracidiums, protégeant ainsi les mollusques contre l'infection. L'idée pourrait être avancée d'utiliser *M. gigas*, ou d'autres turbellariés, dans le contrôle biologique de la bilharziose. Cependant, cette approche, comme pour d'autres espèces animales expérimentées dans la lutte biologique contre les schistosomes, n'a pas encore fait ses preuves d'efficacité sur le terrain (McCullough 1981). En effet, dans la nature, la variété des proies à disposition et les lois de la dynamique des populations sont assez différentes des conditions de laboratoire, et un certain équilibre finit par se réaliser entre le prédateur et ses proies.

Suite à l'expérience que nous avons eue dans notre élevage, il nous apparaît utile d'exposer les possibilités d'élimination de ces micro-turbellariés des élevages d'escargots. Malgré les difficultés dues à la résistance des œufs de turbellariés et la contamination rapide d'autres aquariums dès leur apparition, les quelques mesures suivantes ont été utilisées avec un succès relativement satisfaisant:

1. l'élimination pure et simple de l'argile, qui ne semble pas indispensable au développement des escargots;
2. en cas de maintien de l'argile, le lavage répété pendant plusieurs jours, avant d'introduire les mollusques;

3. le tri des mollusques et de leurs pontes sous un microscope à dissection, pour les débarrasser des microturbellariés avant de les transposer dans un aquarium fraîchement préparé;

4. l'utilisation très prudente de substances comme le menthol ou l'uréthane (max. 1%), ayant pour effet de relaxer et de détacher les micro-turbellariés des mollusques. Il faut faire attention, cependant, à ne pas tuer aussi les mollusques (Michelson, comm. pers.);

5. l'utilisation de prédateurs naturels des turbellariés tels que des larves de libellules, des Plécoptères ou quelques poissons (Crozet, comm. pers.); mais le succès spécifique ne semble pas plus garanti que dans les autres formes de lutte biologique proposées dans le cadre de la bilharziose.

CONCLUSIONS

Il ressort de cette étude que l'apparition de micro-turbellariés tels que *Macrostomum gigas* peut compromettre gravement le maintien en laboratoire de cycles biologiques nécessitant l'utilisation de mollusques ou d'autres invertébrés aquatiques, et il semble que ce problème soit apparu également dans d'autres laboratoires (Stohler, comm. pers.). L'attention devrait donc être attirée sur cette éventualité lorsque l'on observe une baisse inexpliquée de la reproduction des mollusques ou des difficultés à obtenir des hôtes convenablement infectés.

Remerciements

Cette étude a bénéficié d'un soutien financier du Programme spécial PNUD/Banque Mondiale/OMS pour la recherche et la formation concernant les maladies tropicales.

Nos remerciements vont au Dr C. Vaucher (Muséum d'histoire naturelle de Genève) et au Dr B. Crozet (Université de Genève), pour leur aide dans la documentation. Nous sommes également reconnaissants au personnel technique du Laboratoire d'Anatomie et Physiologie Comparées de l'Université de Genève, pour sa contribution à diverses phases de ce travail.

Résumé

Dans un élevage de *Bulinus obtusispira* et de *B. globosus* (Gastéropodes) utilisés pour le maintien en laboratoire du cycle de *Schistosoma haematobium*, un Turbellarié Rhabdocoele du genre *Macrostomum* O. Schmidt, 1848, s'est développé de manière explosive et a fortement perturbé la reproduction de ces mollusques. Les *Macrostomum*, très voraces, peuvent ingurgiter les jeunes escargots fraîchement éclos, s'attaquer directement aux adultes, gêner les pontes et détruire les individus morts. D'autre part, les *Macrostomum* sécrètent des filets mucoïdes engluant miracidiums et cercaires, perturbant ainsi considérablement le cycle des Schistosomes en laboratoire. Des méthodes d'élimination des Turbellariés sont indiquées. La morphologie générale et l'ultrastructure de l'intestin de ce *Macrostomum* ont également été étudiées en microscopie optique, électronique à transmission et à balayage.

BIBLIOGRAPHIE

CHERNIN, E. and PERLSTEIN, J. M. 1971. Protection of snails against miracidia of *Schistosoma mansoni* by various aquatic invertebrates. *J. Parasitol.* 57: 217-219.

CROZET, B. 1982. Contribution à l'étude des communautés littorales de macroinvertébrés benthiques du Léman (Petit-Lac) en relation avec leur environnement. *Thèse Sci. biol.*, N° 2064, *Univ. Genève.*

EKLU-NATEY, D. T., WÜEST, J. et HUGGEL, H. 1984. Ultrastructure du tégument et des structures glandulaires de *Macrostomum gigas* Okugawa, 1930 (en préparation).

FERGUSON, F. F. 1940. A Monograph of the Genus *Macrostomum* O. Schmidt, 1848, Part VII. *Zool. Anz.* 129: 120-146.

GLAUDEL, R. J. and ETGES, F. J. 1973. Toxic effects of freshwater turbellarians on Schistosome miracidia. *J. Parasitol.* 59: 74-76.

GRAFF VON, L. 1882. Monographie der Turbellaria I. Rhabdocoelida. *Wilhelm Engelmann, Leipzig*, 442 p.

— 1913. Turbellaria II. Rhabdocoelida. *Tierreich* 35: 484 p.

HOFSTEN VON, N. 1912. Revision der schweizerischen Rhabdocölen und Allocölen. *Revue suisse Zool.* 20: 543-687.

HOLLIMAN, R. B. and MECHAM, J. 1971. *Macrostomum gigas* (Turbellaria Rhabdocoela), a predator on *Schistosoma mansoni* Cercariae. *J. Parasitol.* 57: 680-681.

HYMAN, L. H. 1936. Studies on the Rhabdocoela of North America. I. On *Macrostomum tubum* (von Graff) 1882. *Trans. Am. microsc. Soc.* 55: 14-20.

— 1943. On a species of *Macrostomum* (Turbellaria: Rhabdocoela) found in tanks of exotic fishes. *Am. Midland Nat.* 30: 322-335.

JENNINGS, J. B. 1957. Studies on feeding, digestion and food storage in free-living flatworms (Platyhelminthes: Turbellaria). *Biol. Bull.* 112: 63-80.

— 1974. Digestive Physiology of the Turbellaria. *In*: RISER, N. W. and MORSE, M. P., Biology of the Turbellaria. *McGraw-Hill Co, New York*, pp. 173-197.

LANFRANCHI, A. and PAPI, F. 1978. Turbellaria. *In*: ILLIES, J., Limnofauna Europea. *Gustav Fisher Verlag*, 2e ed. *Stuttgart*, pp. 5-15.

McCULLOUGH, F. S. 1981. Biological control of the snail intermediate hosts of human Schistosoma spp: a review of its present status and future prospects. *Acta tropica* 38: 5-13.

OKUGAWA, K. 1930. A list of the fresh-water Rhabdocoelids found in Middle Japan, with preliminary descriptions of new species. *Mem. Coll. Sci. Kyoto Univ., Series B*, 5: 75-90.

OSBORNE, P. J. and MILLER JR. A. T. 1963. Acid and alkaline phosphatase changes associated with feeding, starvation and regeneration in Planarians. *Biol. Bull.* 124: 285-292.

PAPI, F. 1952. Note faunistiche sui Turbellari dell'Italia centrale. *Monit. zool. ital.* 60: 1-13.

ROSENBAUM, R. M. and ROLON, C. I. 1960. Intracellular digestion and hydrolytic enzymes in the phagocytes of Planarians. *Biol. Bull.* 118: 315-323.

YOUNG, J. O. 1976. Systematic studies on limnic *Macrostomum* species (Turbellaria, Macrostomida) from East Africa. *Zool. Scripta* 5: 49-60.

YOUNG, J. O. and YOUNG, B. M. 1967. *Macrostomum tuba* (Graff), 1882 (Turbellaria, Rhabdocoela), recorded in British freshwater aquaria. *Nature* 18: 1149-1150.